

**DETERMINACIÓN DE LOS EFECTOS DE LA APLICACIÓN INTRAVENOSA DE
OZONO EN LA BIOMETRIA Y BIOQUIMICA HEMÁTICA EN CABALLOS (*Equus
ferus caballus*) CLÍNICAMENTE SANOS.**

ALFREDO FRANCISCO SUÁREZ CHICA, MVZ.

**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
MAESTRÍA EN CIENCIAS VETERINARIAS DEL TRÓPICO
BERÁSTEGUI
2020**

**DETERMINACIÓN DE LOS EFECTOS DE LA APLICACIÓN INTRAVENOSA DE
OZONO EN LA BIOMETRIA Y BIOQUIMICA HEMÁTICA EN CABALLOS (*Equus
ferus caballus*) CLÍNICAMENTE SANOS.**

ALFREDO FRANCISCO SUÁREZ CHICA, MVZ.

**Trabajo de tesis como requisito para optar al título de Magister en Ciencias
Veterinarias del Trópico**

Director: JOSE ALBERTO CARDONA ÁLVAREZ;. Esp, MSc, PhD.

**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
MAESTRÍA EN CIENCIAS VETERINARIAS DEL TRÓPICO
BERÁSTEGUI
2020**

Nota de aceptación

_____	_____
_____	_____
_____	_____

_____	Presidente del Jurado
-------	------------------------------

_____	Jurado
-------	---------------

_____	Jurado
-------	---------------

AGRADECIMIENTOS

A todas las personas que me ayudaron con sus aportes en la realización de este trabajo de grado y que me apoyaron para impulsar este proyecto de vida, de una manera positiva.

Quiero reconocer al doctor **José Alberto Cardona Álvarez** por confiar de primera mano en mí y crear ese hábito de investigación.

Al doctor **Oscar Vergara Garay** por sus asesorías y respaldo en este proceso.

Agradecer al doctor **Victor Arroyave** por sus asesorías en cuanto al manejo de los equinos.

Por el apoyo brindado en el laboratorio clínico de la clínica veterinaria Julio E. Cuervo, conformado por la Doctora **Haydee Iguarán** y el auxiliar **Teobaldo Martínez**.

Al equipo de trabajo del laboratorio de andrología conformado por la Doctora. **Clara Rúgeles** y al Doctor. **Arles Acosta** por su apoyo en la parte bioquímica sanguínea.

Gracias al equipo de trabajo de la clínica veterinaria y al cuerpo docente que la conforman.

A **Dios y mi familia en especial a mis hijas y esposa por su apoyo incondicional**,
Gracias.

DEDICATORIA

A mi papá por ser el pilar fundamental en mi vida
Ser esa persona dedicada y entregada a su familia.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	1
JUSTIFICACIÓN	2
OBJETIVOS.....	3
OBJETIVO GENERAL.....	3
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
MARCO CONCEPTUAL.....	4
ANTECEDENTES DE LA OZONOTERAPIA.....	4
EL OZONO CON FINES TERAPÉUTICOS (ozono medicinal).....	5
HEMOGRAMA	10
EL ERITROGRAMA	11
LA HEMOGLOBINA	11
LEUCOGRAMA.....	11
LOS GLÓBULOS BLANCOS.....	12
TROMBOGRAMA.....	12
PERFIL BIOQUÍMICO.....	12
ASPARTATO AMINOTRANSFERASA (AST antes GOT).....	13
ALANINA AMINOTRANSFERASA (ALT)	13
FOSFATASA ALCALINA (FA - ALP)	13
PROTEÍNAS PLASMÁTICAS TOTALES	14
ALBÚMINA	14
UREA / BUN.....	15
BILIRRUBINA.....	16
BIBLIOGRAFIA.....	18
CAPITULO 2.	22
DETERMINACIÓN DE LOS EFECTOS DE LA APLICACIÓN INTRAVENOSA DE OZONO EN LA BIOMETRIA Y BIOQUIMICA HEMÁTICA EN CABALLOS (Equus ferus caballus) CLÍNICAMENTE SANOS.	22
INTRODUCCION.....	23
MATERIALES Y METODOS	24

RESULTADOS Y DISCUSIÓN 27

CONCLUSIONES..... 36

RECOMENDACIONES..... 36

BIBLIOGRAFÍA..... 37

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.	Valores medios de tratamiento de la línea roja en equinos tratados con ozono clínico según dosis.....	26
Cuadro 2.	Valores medios de la línea blanca en equinos tratados con ozono clínico según dosis	28
Cuadro 3.	Valores medios de la bioquímica sanguínea en equinos tratados con ozono clínico según dosis.....	30

LISTA DE GRÁFICAS

Grafico 1. Valores medios de las plaquetas para los grupos experimentales.....	28
Grafico 2. Valores medios de los leucocitos para los grupos experimentales.....	29
Grafico 3. Valores medios de la ALP para los grupos experimentales.....	31
Grafico 4. Valores medios de la UREA para los grupos experimentales.....	32
Grafico 5. Valores medios del BUN para los grupos experimentales.....	33
Grafico 6. Valores medios de la Bilirrubina total para los grupos experimentales.....	34

RESUMEN

La ozonoterapia con fines medicinales es utilizada desde hace muchos años y su utilidad ha sido reportada en múltiples estudios, en nuestra región y más específicamente en la medicina veterinaria poco se sabe sobre las bondades que esta terapia ofrece para mejorar la calidad de vida de los pacientes.

Desde esta óptica basados en establecer los posibles cambios a nivel de la biometría y bioquímica hemática y monitorear el comportamiento de los componentes bioquímicos hemáticos; ALT, AST, ALP, Albumina, Proteínas totales, Urea, BUN, Bilirrubina total y Bilirrubina directa. Se realizó el presente trabajo utilizando la autohemoterapia mayor en equinos, utilizando un total de 14 ejemplares de caballos criollos Colombianos, con edades promedio entre los 5 y 7 años, clínicamente sanos, distribuidos así: Grupo A, conformado por tres hembras y tres machos a los cuales se les administro una dosis de ozono de 60 μ /ml; Grupo B. conformado por tres hembras y tres machos a los cuales se les administro una dosis de ozono de 25 μ /ml y Grupo C, conformado por una hembra y un macho a los cuales no se les aplico ozono, después de realizada cinco aplicaciones de ozono para los grupos A y B se obtuvieron los siguientes resultados para el hemograma fueron: Hematocrito $31,73 \pm 3,99$ %, Hemoglobina $11,36 \pm 1,32$ g/dL, Eritrocitos $6,78 \pm 1,23 \times 10^6/\text{mm}^3$, Plaquetas $229,62 \pm 68,8324 \times 10^3/\text{mm}^3$, Leucocitos $9,23 \pm 1,65 \times 10^3/\text{mm}^3$, Granulocitos $1,11 \pm 1,57$ %, Linfocitos $2,83 \pm 0,57$ %, Eosinófilos $0,66 \pm 0,51$ %, Monocitos $0,29 \pm 0,08$ %. En el análisis de química sanguínea los resultados se describen a continuación AST $120,52 \pm 31,77 \mu\text{L}$, ALT $2,95 \pm 1,52 \mu\text{L}$, ALP $334,33 \pm 95,12 \mu\text{L}$, Albumina $2,48 \pm 0,82$ g/dL, Proteínas totales $6,49 \pm 1,29$ mg/dL, Úrea $33,27 \pm 10,28$ mg/dL, BUN $13,86 \pm 4,29$ mg/dL, Bilirrubina directa $0,31 \pm 0,16$ mg/dL, Bilirrubina total $1,52 \pm 0,50$ mg/dL. Los resultados obtenidos evidencian que el ozono a dosis terapéuticas no ocasiono alteraciones clínicas en los equinos, se evidencio una estimulación en las plaquetas y en menor grado de los leucocitos, tanto los resultados de la biometría y bioquímica sanguínea se mantuvieron dentro de los valores de referencia para la especie equina.

Palabras claves: Caballos, Ozono, Sangre, Intravenoso (*Mesh*).

ABSTRACT

Ozone therapy for medicinal purposes has been used for many years and its utility has been reported in multiple studies, in our region and more specifically in veterinary medicine little is known about the benefits that this therapy offers to improve the quality of life of our patients.

From this point of view, based on establishing possible changes at the level of biometry and blood biochemistry and monitoring the behavior of the hematic biochemical components; ALT, AST, ALP, Albumin, Total Proteins, Urea, BUN, Total Bilirubin and Direct Bilirubin. The present work was performed using the largest autohemotherapy in equines, using a total of 14 horses of Colombian Creole horses, with average ages between 5 and 7 years old, clinically healthy, distributed in this way Group A conformed by three females and three males to which they were administered a dose of ozone of 60 μ / ml, Group B conformed by three females and three males to which they were administered a dose of ozone of 25 μ / ml and Group C conformed by a female and a male to which no ozone was applied, after five ozone applications for groups A and B, the following results were obtained for the blood count: Hematocrit $31.73 \pm 3.99\%$, Hemoglobin 11.36 ± 1.32 g/dL , Erythrocytes $6.78 \pm 1.23 \times 10^6/\text{mm}^3$, Platelets $229.62 \pm 68.8324 \times 10^3/\text{mm}^3$, Leukocytes $9.23 \pm 1.65 \times 10^3/\text{mm}^3$, Granulocytes $1.11 \pm 1.57 \%$, Lymphocytes $2.83 \pm 0.57 \%$, Eosinophils $0.66 \pm 0.51 \%$, Monocytes $0.29 \pm 0.08 \%$. In the blood chemistry analysis the results are described below AST 120.52 ± 31.77 μ /L, ALT 2.95 ± 1.52 μ /L, ALP 334.33 ± 95.12 μ /L, Albumin 2.48 ± 0.82 g/dL, Total protein 6.49 ± 1.29 mg/dL, Urea 33.27 ± 10.28 mg/dL, BUN 13.86 ± 4.29 mg/dL, Direct bilirubin 0.31 ± 0.16 mg/dL, Total bilirubin 1.52 ± 50 mg/dL. The results obtained show that the ozone at therapeutic doses did not cause clinical alterations in equines, stimulation was evidenced in the platelets and to a lesser degree of the leukocytes, both the results of the blood biometry and biochemistry remained within the reference values for the equine species.

Key words: Horses, Ozone, Blood, Intravenous (*Mesh*).

INTRODUCCIÓN

Con los diferentes usos (trabajo, recreo, deporte, escuela, reproducción, etc.), los potros y caballos tienen que adaptarse a numerosos desafíos y cambios en su entorno, que puede ser un reto en sí para salvaguardar en forma continua su bienestar, incluso para cubrir sus necesidades próximas (alimentación y reproducción) (1).

La estabulación de los equinos es una forma de manejo cotidiana, principalmente en aquellos destinados a deporte, provocando modificaciones conductuales debido al cambio desde un ambiente natural a uno artificial, pudiendo afectar su bienestar (2).

Los equinos son utilizados en actividades deportivas y educativas en las escuelas de equitación exigiendo cada día lo mejor de ellos para cumplir con los retos diarios. Todo esto enmarcado en las normas de bienestar animal, El bienestar animal tiene que ver con los sentimientos que experimentan los animales: la ausencia de sentimientos negativos fuertes, generalmente llamados sufrimiento, y (probablemente) la presencia de sentimientos positivos, generalmente llamados placer (3).

Entre las distintas terapéuticas hoy día contamos con las unidades portátiles productoras de ozono medicinal. El uso de la mezcla de ozono y oxígeno es una de esas terapias conservadoras y respetuosas con el organismo que permiten aplicar una solución cualitativamente novedosa a problemas terapéuticos actuales de muchas enfermedades que posiblemente no encuentran respuestas adecuadas en los tratamientos convencionales (4).

En el campo de la medicina veterinaria se está incursionando en el uso de la ozonoterapia por diferentes vías de administración y cada vez son más los profesionales que la utilizan logrando obtener resultados satisfactorios para mejorar el bienestar de los pacientes.

JUSTIFICACIÓN

Colombia cuenta con reconocimiento internacional por sus especies caballar, mular y asnal, siendo dedicadas a diferentes actividades como, deporte como el coleo, carreras o tiro, así como en el trabajo como es el caso de los caballos de vaquería, y mulares y asnales dedicados a diferentes labores de trabajo pesado de carga, un punto especial son los caballos criollos colombianos dedicados a exposiciones de los diferentes andares como el paso fino, trote, trocha y el galope, Sumando en total, una población de 1.486.870 en Colombia, asentadas principalmente en los departamentos de Antioquia (11,97 %), Tolima (7,98 %), Córdoba (7,77 %), Cundinamarca (7,29 %), Casanare (6,06 %), Cauca (5,84%), Meta (5,21%) Y Cesar (4,11%) es en estas regiones en donde se concentra el 56,52 % del censo equino nacional. La distribución geográfica de la población, la identificación de problemas sanitarios y la dinámica de la población fundamentan el diseño de estrategias para los programas sanitarios y la adopción de medidas de control (Instituto Colombiano Agropecuario – ICA) (5).

Los equinos son susceptibles a sufrir trastornos multisistémicos debido a múltiples factores, siendo utilizados un sinnúmero de tratamientos para solucionarlos, entre los cuales se encuentra la ozonoterapia, por lo que en el presente trabajo se establecerán los efectos hematológicos, de la aplicación intravenosa del ozono en equinos clínicamente sanos, siendo de mayor interés la ausencia de investigaciones en este ámbito, por lo que el presente estudio contribuirá positivamente en el establecimiento de estrategias terapéuticas adecuadas en el manejo intravenoso del Ozono en un grupo de caballos clínicamente sanos del Departamento de Córdoba, Colombia.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar los efectos de la aplicación intravenosa de ozono en la biometría y bioquímica hemática en caballos clínicamente sanos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Monitorear el comportamiento de los componentes bioquímicos hemáticos; ALT, AST, ALP, Albumina, Proteínas totales, Urea, BUN, Bilirrubina directa y Bilirrubina total después de la aplicación del ozono intravenoso en caballos clínicamente sanos.
- Evaluar el comportamiento en la biometría hemática después de la aplicación del ozono intravenoso en caballos clínicamente sanos.

MARCO CONCEPTUAL

El ozono en la atmosfera se localiza integrando la denominada capa de Ozono que nos protege de las radiaciones ultravioleta del sol, de forma natural dichas radiaciones descomponen las moléculas de Oxígeno del aire en átomos libres, los cuales se unen en el ambiente con otras moléculas de Oxígeno para constituir el ozono (6).

El termino ozono procede del griego *ozein*, “tener olor” a, debido a que el ozono es un gas de color azul pálido y fuerte olor. El ozono puede encontrarse de forma natural en las capas altas de la atmosfera formando lo que se conoce como “capa de ozono”, que es de gran importancia biológica ya que atenúa los efectos de la radiación ultravioleta. Sin embargo, en el suelo el ozono es un contaminante de alta toxicidad, perjudicial para los seres vivos porque daña las membranas celulares, principalmente por su acción oxidante (7).

ANTECEDENTES DE LA OZONOTERAPIA

La ozonoterapia es la aplicación de Ozono con fines médicos para el tratamiento de diversas enfermedades presentes en la clínica veterinaria. Es considerada una terapia de la medicina alternativa que adquirió importancia a finales del siglo XVIII (8).

El Ozono fue descubierto y descrito por el científico holandés Martinus Van Marun en 1785 al percibir un olor distintivo que se generaba en zonas cercanas a maquinas que funcionaban con electricidad. Más tarde es investigado y aplicado por el médico alemán Christian Friedrich Schönbein en 1840 quien lo descubre y le da nombre de Ozono que proviene del griego “ozein” que significa oloroso (6).

En la actualidad existen más de 40 asociaciones nacionales e internacionales que agrupan los profesionales que practican esta terapia, revistas especializadas indexadas, cursos de formación continuada y congresos sobre el tema. Sin embargo, la aplicación generalizada de la ozonoterapia y su regularización por parte de las

autoridades es un tema crítico en la actualidad. La ozonoterapia se enfrenta al bloqueo a su introducción por parte de la potente industria farmacéutica que vería disminuida la venta de fármacos. Además, la venta de máquinas generadoras y dispositivos para la terapia que comercializan sus productos entre profesionales de la salud, sin que cumplan los estándares establecidos y/o sin poseer una adecuada preparación teórica y práctica pueden generar accidentes en su aplicación, lo que dañaría la imagen de esta terapia. Por otra parte, su utilización por personas no debidamente formadas puede dar lugar a malas prácticas médicas (9).

EL OZONO CON FINES TERAPÉUTICOS (ozono medicinal)

Es la mezcla como máximo de un 95% de oxígeno (O_2) y un 5% de ozono (O_3). La terapia de ozono es una tecnología que se utiliza actualmente en el tratamiento de una gran variedad de enfermedades, con una difusión creciente en el ámbito médico. Este tratamiento no es está exento de riesgos, que en algunos casos pueden llegar a ser graves en terapias instauradas en humanos (7).

En los últimos años la ozonoterapia como método terapéutico efectivo ha obtenido un mayor desarrollo y difusión. Rusia y Cuba la tienen reconocida en su normativa; en más del 76% de las Comunidades Autónomas españolas está regulada y en Italia cuatro Regiones han señalado los criterios para su práctica, además de dos decisiones judiciales favorables. La ozonoterapia se caracteriza por la simplicidad de su aplicación, alta efectividad, buena tolerancia, y con prácticamente ausencia de efectos colaterales (9).

Los tres principios básicos que deben considerarse antes de iniciar cualquier procedimiento Ozono terapéutico son los siguientes:

- a. *Primum non nocere*: Ante todo no hacer daño.
- b. Escalonar la dosis: En general, empezar siempre con dosis bajas e incrementarlas lentamente, excepto en úlceras o heridas infectadas, donde se

procederá de forma inversa (comienza con concentraciones altas y se va disminuyendo en función de la mejoría).

c. Aplicar la concentración necesaria: Concentraciones de Ozono mayores no necesariamente son mejores, al igual que ocurre en medicina con todos los fármacos (10).

Entre los principales objetivos del Ozono se encuentra: mejorar la circulación sanguínea, mayor oxigenación de los tejidos, mejora el metabolismo de los ácidos grasos que activan las enzimas encargadas de controlar la oxidación celular (9).

La ozonoterapia es una técnica que está encaminada a ayudar en diversas enfermedades que se presentan en la clínica veterinaria. Sirve como coadyuvante debido a sus propiedades analgésicas, germicida, por mencionar algunas. Las enfermedades que se han tratado en los últimos años con la aparición de la ozonoterapia como medicina alternativa son: Problemas de la piel originadas por alergias, parásitos, bacterias u hongos, procesos tumorales, en enfermedades que afectan el sistema inmunitario, enfermedades infecciosas, parasitosis, enfermedades cardiovasculares (11).

El Ozono establece una acción inmunomoduladora a partir de la síntesis y liberación de citocinas inmunoestimuladoras o inmunosupresoras (10).

Entre las tres enzimas antioxidantes, la superóxido dismutasa de Cu/Zn es el objetivo principal para darse la inactivación inducida por ozono, por lo tanto, el glutatión como el ascorbato son eficaces para proteger la enzima del ozono (12).

Se ha demostrado que la autohemoterapia con ozono en humanos promueve la recuperación de la función motora de las extremidades superiores en pacientes con infarto cerebral agudo, la autohemoterapia ozonizada contribuye a la recuperación de la función clínica, posiblemente mediante la reducción de lesiones remotas después de un

infarto cerebral agudo. Sesenta pacientes con infarto cerebral agudo de 30 a 80 años fueron asignados de forma igualitaria y aleatoria a grupos de tratamiento y control de ozono. Los pacientes del grupo de tratamiento con ozono recibieron tratamiento médico y autohemoterapia ozonizada mayor (47 mg/L, 100 mL de ozono) durante 10 ± 2 días. Los pacientes del grupo control recibieron tratamiento médico solamente. La puntuación de la Escala de Stroke de los Institutos Nacionales de Salud, la puntuación de la escala de Rankin modificada y los valores reducidos de anisotropía fraccional de las imágenes de tensor de difusión por resonancia magnética cerebral disminuyeron notablemente, mejoraron la función cerebral y aumentaron significativamente las reacciones adversas evidentes en el tratamiento con ozono En comparación con el grupo control. Estos hallazgos sugieren que la principal autohemoterapia ozonizada promueve la recuperación de la función neurológica en pacientes con infarto cerebral agudo mediante la reducción de la lesión a distancia, y además, exhibe alta seguridad (13).

La restauración del flujo sanguíneo magistral y colateral combinado con anestesia epidural prolongada y autohemoterapia con ozono mejora los resultados quirúrgicos y la rehabilitación de pacientes con tromboangitis obliterante e isquemia grave de miembros inferiores en humanos (14). La estimulación del sistema de redoxina mediante el pretratamiento con ozono podría neutralizar el daño oxidativo desde el inicio y aumentar la capacidad de amortiguamiento antioxidante después de la lesión, reduciendo el daño adicional y por lo tanto la demanda de enzimas antioxidantes en la proliferación neointimal coronaria intra-stent (15).

La autohemoterapia de ozono es eficaz en la reducción de los síntomas de los pacientes con esclerosis múltiple (EM), pero sus efectos en el cerebro aún no están claros. Se ha monitoreado los cambios en el patrón cerebrovascular de pacientes con EM y sujetos normales durante la autohemoterapia de ozono principal usando la espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS) como técnica funcional y vascular. Las señales NIRS se analizan usando una combinación de tiempo, análisis tiempo-frecuencia y análisis no lineal de señales de función de modo intrínseco obtenidas de la

técnica de descomposición en modo empírico. Nuestros resultados muestran que hay una mejora en el patrón cerebrovascular de todos los sujetos indicados por el aumento de la entropía de las señales NIRS. Por lo tanto, se pudo concluir que la terapia de ozono aumenta el metabolismo cerebral y ayuda a recuperarse de los niveles de actividad más bajos que es predominante en los pacientes con EM (16).

La aplicación autohemoterapia ozonizada (MOA) pre-isquémica atenuaría la lesión de isquemia-reperfusión renal (IRI) en conejos, El efecto protector del MOA está mediado a través de la reducción de la respuesta inflamatoria y la regulación de las especies de oxígeno reactivo (ROS). La histología renal también mostró evidencia convincente respecto a la naturaleza protectora del MOA contra la isquemia-reperfusión renal inducida por lesión renal. En consecuencia, MOA podría ser útil en la protección de los riñones de daño inducido por IR, probablemente a través del efecto anti-inflamatorio y la reducción del estado de oxidante total (17).

Un estudio in vitro tuvo como objetivo comparar las cantidades de endotoxina liberada de *Escherichia coli* expuesta a antibióticos (aminobencilpenicilina, kanamicina, oxitetraciclina, sulfadimetoxina y enrofloxacin) u ozono. El crecimiento bacteriano y la cantidad de endotoxina liberada se midieron en puntos de tiempo específicos. En comparación con el tratamiento con antibióticos, la esterilización con ozono indujo la liberación de pequeñas cantidades de endotoxina de las bacterias. Además, no observaron diferencias importantes cuando se utilizó ozono contra la endotoxina purificada. Concluyeron que, en comparación con el tratamiento con antibióticos, la esterilización con ozono puede liberar pequeñas cantidades de endotoxina (18).

En un estudio se determinó la eficacia de la solución salina (grupo A), estreptomycin (grupo B), y ozono (grupo C) en una patología del ganado lechero como lo es la urovagina la cual es perjudicial para la salud y la fertilidad de las vacas en todo el mundo. El tratamiento con ozono resultó ser la modalidad de tratamiento más eficaz, resultando en el período más corto de días abiertos (95, 89 y 79 días en los grupos A, B y C, respectivamente, $p < 0,05$), el menor número de inseminaciones hasta el

embarazo (2,38, 1,84 y 1,63 en los grupos A, B y C, respectivamente, $p < 0,05$) y el menor número de vacas seleccionadas (20, 23 y 12 en los grupos A, B y C, respectivamente, $p < 0,05$) (19). El rubor de ozono junto con la inseminación intracornual presenta una opción de tratamiento eficaz para urovagina que puede conducir a concepciones exitosas y embarazos en vacas lecheras. Los mismos autores posteriormente en otra investigación demostraron la eficacia del ozono intrauterino para el tratamiento de vacas con retención placentaria, tiene un potencial como opción de tratamiento eficaz y rentable, con un efecto positivo global sobre la salud puerperal y la fertilidad en las vacas (20).

Autohemoterapia ozonizada (OAHT) promueve la producción de antioxidantes. Ese estudio tuvo como objetivo evaluar los efectos de la OAHT sobre la capacidad antioxidante. Se utilizaron diez caballos de pura sangre en ese estudio. Después de la OAHT, se recogieron muestras de suero y se midió el potencial antioxidante biológico (BAP). Se encontró que el BAP comenzó a aumentar después de la OAHT y fue significativamente mayor en el grupo OAHT que en 3 ($P < 0,01$) y 7 días ($P < 0,05$) después de OAHT que en el grupo control a los 3 y 7 días después del inicio de la recolección muestras de sangre (21).

En un estudio avalado por la Sociedad Japonesa de Ciencias Veterinarias, se investigó si administración de ozono en sangre para realizar auto-hemotransfusión (OAHA) influye en las poblaciones de leucocitos en vacas con enfermedad inflamatoria clínica. En dicho estudio se utilizaron 11 vacas con enfermedad inflamatoria (Grupo Inflamatorio) y tres vacas sanas (Grupo Control). La relación $CD4 + / CD8 +$ en el Grupo inflamatorio aumentó significativamente en comparación con la del Grupo control 3 a 4 días después del tratamiento con OAHA. En el Grupo Inflamatorio, el número de células $CD14 +$ disminuyó gradualmente después de OAHA, pero los niveles de $CD14 +$ se mantuvieron estables en el Grupo control. El número de células MHC de clase II disminuyó gradualmente en el Grupo inflamatorio, pero aumentó gradualmente en el Grupo control, y la diferencia entre los grupos fue significativa al día 14 después de la OAHA. Estos resultados sugieren una posible diferencia en la activación de la

respuesta inmune después de OAHA en vacas infectadas en comparación con las vacas sanas (22).

El comportamiento bioquímico de componentes de la sangre (glucosa, fibrinógeno, fosfoquinasa de creatina, y gamma-glutamilttransferasa) se midió en vivo en 12 caballos mestizos (seis machos y seis hembras), con edades entre 4 y 20 años, tratados con la terapia de ozono. El tratamiento se realizó mediante la aplicación de 500 o 1.000 ml de la mezcla de oxígeno-ozono (O₃-O₂) por vía intravenosa cada tres días durante 24 días. Los caballos fueron divididos en cuatro grupos: MT500 que consta de tres machos tratados con 500 mL; MT1000 tres machos tratados con 1000 mL; FT500, tres hembras y tratado con 500 mL FT1000, tres hembras tratadas con 1000 mL. La terapia de ozono por vía intravenosa no causó trastornos clínicos en los caballos. Los valores medios mínimos y máximos de glucosa, fibrinógeno, creatina fosfoquinasa, y gamma-glutamyl transferasa se mantuvieron dentro de los rangos de referencia para especies equinas. Hubo una disminución en las concentraciones de glucosa y transferasa gamma glutamil durante los periodos de aplicación y el aumento de los valores de fibrinógeno, mientras que la creatina fosfoquinasa no se ve afectado por el tratamiento (23). En un estudio realizado se ratificó que el ozono a dosis terapéuticas en humanos no causa daños en los eritrocitos ni inducen la oxidación de la hemoglobina intracelular (24).

HEMOGRAMA

El hemograma también conocido como cuadro hemático, biometría hemática o recuento de células sanguíneas es una de las pruebas que más se solicita al laboratorio clínico, y sin duda alguna, la prueba de laboratorio que más aporta al clínico en la evaluación de un paciente. El hemograma se define como el análisis cuantitativo y cualitativo de los componentes celulares de la sangre periférica (25).

En su estudio se incluye el recuento de eritrocitos, el valor hematocrito, la concentración de la hemoglobina, el volumen corpuscular medio (VCM), la

hemoglobina corpuscular media (HCM), la concentración corpuscular media de hemoglobina (CCMH), el recuento total y diferencial de leucocitos, el recuento de plaquetas y el estudio de la morfología celular en las tres líneas (26).

ERITROGRAMA: es la parte del hemograma donde mide la serie roja de la sangre, se indica en los pacientes con enfermedad de difícil diagnóstico clínico, pues detecta alteraciones cuantitativas y cualitativas de los eritrocitos, es útil para la evaluación del pronóstico y la eficacia terapéutica de diversas enfermedades que pueden alterar el cuadro eritrocitario como, por ejemplo; anemia y deshidratación (27).

HEMOGLOBINA: es una proteína especializada en el transporte de oxígeno desde los pulmones hacia los tejidos y de dióxido de carbono (CO₂) desde los tejidos hacia los pulmones. La concentración de hemoglobina es posiblemente el indicador bioquímico más utilizado en la salud pública, ya que define la deficiencia nutricional más prevalente en los países en desarrollo, que es la anemia (28).

La concentración de la hemoglobina se puede reducir por dos razones; anemia fisiológica y patológica. La anemia fisiológica en el embarazo se produce con una disminución en los niveles de hemoglobina debido a que la expansión del volumen del plasma es mayor que la expansión de la masa eritrocitaria, con la consiguiente disminución de la concentración de Hb (hemodilución). Sin embargo, la anemia patológica puede ser debido a deficiencias nutricionales, como la falta de vitamina B12 (Cianocobalamina), vitamina B9 (ácido fólico) y minerales como el hierro, supresión en la médula ósea, enfermedades hemolíticas, el sangrado y las neoplasias (29).

LEUCOGRAMA: se define como el análisis cuantitativo y cualitativo de los parámetros relacionados con los glóbulos blancos o leucocitos en sangre periférica. Del leucograma hacen parte el recuento total y el recuento diferencial de leucocitos, incluidas las alteraciones morfológicas que puedan presentarse. Además de los parámetros cuantitativos, también hace parte integral del leucograma el estudio de la morfología de los leucocitos en extendidos de sangre periférica (25).

GLÓBULOS BLANCOS: constituyen una población celular heterogénea, sus características morfológicas y funcionales permiten su diferenciación en base a estas características, que los autoanalizadores de última generación son capaces de realizar recuentos de algunas poblaciones leucocitarias semejantes a los obtenidos por la lectura del frotis al microscopio (30).

TROMBOGRAMA: se define como el análisis cuantitativo y cualitativo de los parámetros relacionados con las plaquetas en sangre periférica. Del trombograma hacen parte el recuento convencional plaquetario, los nuevos parámetros derivados de los contadores electrónicos como volumen medio plaquetario, el ancho de distribución de las plaquetas, el plaquetocrito y el índice de plaquetas inmaduras (25).

La trombocitosis es la presencia de recuentos plaquetarios por encima del rango de referencia normal. Es secundaria a la hiperproducción de trombopoyetina, la trombocitosis secundaria puede ocurrir luego de una hemorragia o en asociación con ella, especialmente cuando la hemorragia activa causa anemia por deficiencia de hierro. La trombocitosis transitoria ocurre con la actividad física y secreción de epinefrina porque una esplenotomía moviliza las plaquetas almacenadas hacia la circulación. Mientras que la trombocitopenia es la reducción de las plaquetas en sangre, las causas primarias incluyen hipoproducción, incremento del consumo de plaquetas en la formación de trombos, aumento de la destrucción, secuestro de plaquetas y hemorragia externa masiva (31).

PERFIL BIOQUÍMICO

Un perfil bioquímico es un conjunto de determinaciones de laboratorio que permiten la caracterización de un individuo o grupo de ellos, y tiene por objeto aportar una ayuda clínica para estudiar la naturaleza de los trastornos metabólicos y obtener un acercamiento a la evaluación del balance nutricional del organismo (32). **ASPARTATO AMINOTRANSFERASA (AST antes GOT):** es una enzima citosólica unida a las mitocondrias que cataliza la reacción responsable de la biosíntesis de aspartato a partir de los carbohidratos (33). Tiene una amplia distribución en los tejidos, y se libera al plasma de células dañadas de diferentes tejidos, incluyendo el hepático, músculo cardíaco, eritrocitos, células intestinales y riñones, por lo cual no es un indicador específico de enfermedad Hepática (31; 33). Tiene una vida media prolongada y su actividad en sangre puede tardar más de dos semanas en disminuir después de enfermedad hepática aguda (33).

ALANINA AMINOTRANSFERASA (ALT): es una enzima del citosol, hepatoespecífica en perros y gatos. En el caso de caballos y rumiantes no es significativa. Su incremento se asocia a la liberación por aumento en la permeabilidad celular o necrosis de hepatocitos, aunque menores cantidades se encuentran en corazón, riñones y músculos. Su vida media es muy variable, va de tres horas a cuatro días en el perro, en el gato es más corta. Durante hepatopatías agudas, como hepatitis infecciosa canina o por toxinas, la actividad de ALT puede incrementarse hasta 100. En procesos crónicos, su aumento no es tan elevado, pero sí más persistente. Con frecuencia se pretende dar una significancia a la magnitud del incremento, lo cual es un error. En enfermedad hepática terminal muchas veces se encuentra dentro de los valores de referencia (34).

FOSFATASA ALCALINA (FA - ALP): un indicador importante de vías biliares es la fosfatasa alcalina. Esta enzima se produce en la membrana de las mitocondrias y los canalículos biliares de los hepatocitos. Bajo condiciones normales, es liberada mayormente en la bilis. Otro sitio donde se produce en cantidad importante es el tejido óseo; sobre todo, existe liberación a la sangre cuando hay actividad osteoblástica. En animales jóvenes los valores de los adultos se llegan a duplicar.

Otros tejidos que secretan FA a la circulación son: mucosa intestinal, riñón y placenta; sin embargo, las lesiones sobre éstos no causan incrementos significativos de la enzima. La vida media de la FA es relativamente corta, en gatos dura sólo seis horas y en perros, cerca de tres días. Después de una obstrucción biliar, los primeros incrementos se observan a las ocho horas; entre dos y cuatro días los valores de referencia pueden aumentar hasta 15 veces, y el pico, de hasta 100, puede observarse entre unas y dos semanas. No existe relación en la diferencia en el valor de FA entre la obstrucción intrahepática y la extrahepática. En los gatos, la actividad es baja, por lo cual los incrementos ligeros de esta enzima serán sugestivos de colestasis (34).

PROTEÍNAS PLASMÁTICAS TOTALES: de forma colectiva, las proteínas plasmáticas realizan una función nutritiva, ejercen presión coloidal osmótica y ayudan en el mantenimiento del equilibrio ácido-base. Las proteínas de forma individual sirven como enzimas, factores de coagulación, hormonas y sustancias de transporte. El principal órgano de síntesis de proteínas plasmáticas es el hígado y el segundo lugar es el sistema inmunitario (35).

Las proteínas presentes en el plasma son la albúmina, las globulinas y el fibrinógeno. Las albúminas generalmente se utilizan para ligar hormonas esteroideas, mientras que las globulinas en algunos casos forman los anticuerpos usados en la defensa contra las enfermedades; y el fibrinógeno que se disuelve en el plasma, se encarga de la coagulación en presencia del calcio (36).

ALBÚMINA: la albúmina es la proteína de mayor concentración en el plasma y transporta muchas moléculas pequeñas en la sangre (por ejemplo, bilirrubina, calcio, progesterona y drogas); representa el 35–50% de la concentración total de proteínas en animales domésticos (equinos, bovinos). También es de vital importancia para impedir que el líquido de la sangre se filtre hacia los tejidos. Esto se debe a que, a diferencia de las moléculas pequeñas como el sodio y el cloro, la concentración de albúmina en la sangre es mucho mayor que en el líquido por fuera de ésta. Dado que la albúmina es producida por el hígado, la disminución de esta a nivel sérico puede ser

producto de una enfermedad hepática, pero también puede ser el resultado de una enfermedad renal que permite que la albúmina se escape a la orina.

La disminución de la albúmina también tiene su explicación por desnutrición o por una dieta baja en proteínas. Existe una correlación directa entre el recambio de albumina y el tamaño corporal, la vida media de la albumina en el caballo es de 19 días. La albúmina tiene carga negativa; la membrana basal del glomérulo renal, también está cargada negativamente, lo que impide la filtración glomerular de la albúmina a la orina. En el síndrome nefrótico, esta propiedad es menor, y se pierde gran cantidad de albúmina por la orina (35).

La función principal de las proteínas en el equilibrio ácido-base es de servir como buffer intracelular, amortiguando o disminuyendo los cambios de acidez de una solución cuando a ésta se le añade un ácido o un álcali y conseguir, por lo tanto, que el pH de la solución cambie lo menos posible; su efecto es prácticamente inmediato. Lo ideal es que un buffer tenga la misma cantidad de sus dos componentes (ácido y base), para amortiguar tanto un ácido como una base (35).

UREA / BUN: la úrea se forma en el hígado como producto final del metabolismo de las proteínas en el intestino. Durante la digestión, la proteína se descompone en aminoácidos, los cuales contienen nitrógeno que se separa en NH_4^+ (ión amonio) y el resto de la molécula se utiliza para producir energía u otra sustancia que necesite la célula (31). Sus niveles son alterados por la ingesta de alimentos y el contenido de proteína del mismo. Su reabsorción renal pasiva se incrementa cuando se reduce el flujo de la orina tubular. La urea está sujeta a factores de variación extrarenales más numerosos que la creatinina (37).

Valores altos de productos nitrogenados en sangre reciben el nombre de azoemia. Si el incremento es renal o si la acumulación de restos nitrogenados produce síntomas clínicos, dicha condición se denomina uremia. Niveles altos de nitrógeno ureico (NUS/BUN) pueden deberse a causas prerrenales, renales o posrenales. Las cardiopatías, el hipoadrenocorticismo, la deshidratación y el shock son las causas prerrenales más comunes. La obstrucción uretral, la ruptura de la vejiga y la laceración uretral son las causas posrenales más frecuentes. La nefropatía glomerular, tubular o intersticial que cursa con aumento de BUN indica que más del 70% de las nefronas no son funcionales. Los valores de BUN disminuyen en la desnutrición y las hepatopatías (31).

BILIRRUBINA: los caballos presentan niveles mayores de bilirrubina sérica no conjugada que otras especies. Por tanto, el plasma equino normal tiene un índice icterico más alto. Un 10 al 15% de caballos normales pueden presentar una coloración amarillenta en las membranas mucosas y esclerótica, limitando el valor diagnóstico clínico en las ictericias importantes. El incremento de la concentración de bilirrubina suele preceder a la ictericia clínicamente detectable. Como la bilirrubina conjugada tiene más afinidad por el tejido conectivo que la forma no conjugada, es de esperar un grado de ictericia importante en enfermedades hepáticas colestásicas, así como, cuando el metabolismo energético de los hepatocitos es interrumpido, en ambos casos, se limita la excreción de bilirrubina conjugada hacia bilis y aumenta su concentración plasmática. Por otro lado, cualquier situación que provoque una disminución en la ingesta de comida, produce un aumento en la concentración plasmática de bilirrubina no conjugada. La hiperbilirrubinemia asociada con insuficiencia hepática aguda alcanza concentraciones superiores a 10 mg/dL. Es de esperar un mayor aumento no proporcional de la fracción no conjugada, pero la concentración de la forma conjugada puede aumentar debido a una obstrucción intrahepática.

La bilirrubina total aumenta en la hepatopatía aguda por la disminución de su captación, conjugación, excreción y el aumento de la producción del grupo Hem debido a una mayor destrucción eritrocitaria. Los caballos que padecen insuficiencia hepática crónica presentan una elevada concentración de bilirrubina total, sin embargo, los aumentos son variables y a menudo menores que en una enfermedad aguda. Aun cuando en una enfermedad hepática crónica no aumente la bilirrubina total, la relación entre la fracción conjugada y ésta, se encuentra notablemente aumentada, cambio que es importante desde el punto de vista diagnóstico (38).

BIBLIOGRAFIA

1. McIlwraith C. Equine welfare. Oxford; Ames Iowa: Wiley-Blackwell; 2011.
2. Marquez C, Escobar A, Tadich TA. Características de manejo y conducta en caballos estabulados en el sur de Chile: Estudio preliminar. Arch Med Vet. 2010; 42:203-207.
3. Duncan, Ian JH. "Evaluación científica del bienestar animal: animales de granja". Revue scientifique et technique. 2005; 24 (2): 483-92.
4. Schwartz A, Nikolaevna C, Viktorovich O, Martinez G, Re L, Avenerovna I. Guia para el uso medico del ozono. 1th. ed. Madrid España: AEPRIMO; 2011.
5. Instituto Colombiano Agropecuario – ICA. Censo pecuario nacional. Retrieved from <http://www.ica.gov.co/getdoc/8232c0e5-be97-42bd-b07b-9cdbfb07fcac/Censos-2008.aspx>; 2018.
6. Menéndez S, González R, Ledea O, Hernández F, León O, Díaz M. El ozono: Aspectos básicos y sus aplicaciones clínicas. Ciudad de La Habana, Cuba: CENIC; 2008.
7. Vidal, S. Efectividad clínica de las intervenciones con ozono. España: Ministerio de Sanidad y Consumo AETSA; 2008.
8. Colin A. Manual del uso de la ozonoterapia en perros. Available from ProQuest Central Basic; 2016.
9. Martínez G, Schwartz A. La ozonoterapia y su fundamentación científica. Revista Española de Ozonoterapia; 2012; 2(1):163-198. Retrieved from <http://dialnet.unirioja.es/servlet/oaiart?codigo=3915917>
10. AEPRIMO. Madrid declaration on ozone therapy. Retrieved from: <http://data.theeuropeanlibrary.org/BibliographicResource/3000147119587>; 2015
11. Vida L, Urruchi W, Rodriguez Z. Utilidad potencial de la ozonoterapia en la medicina veterinaria - potential usefulness of ozone therapy in the veterinary medicine. REDVET; 2009.
12. Lee Y, Mok S, Han S. Ozone-induced inactivation of antioxidant enzymes. Biochimie; 2003; 85(10):947-952. doi:10.1016/j.biochi.2003.09.012

13. Wu XN, Zhang T, Wang J, Liu X, Li Z, Xiang W, Du W, Yang HJ, Xiong TG, Deng W, Peng K, Pan S. Magnetic resonance diffusion tensor imaging following major ozonated autohemotherapy for treatment of acute cerebral infarction. *Neural Regen Res*; 2016; 11(7):1115-21. doi: 10.4103/1673-5374.187046.
14. Abyshov N, Abdullaev A, Zakirdzhaev E, Guliev R, Akhmedov M, Zeinalova G, Mamedova I. The results of combined surgical treatment of thromboangiitis obliterans and critical lower limb ischemia using prolonged epidural analgesia and autohemotherapy with ozone. *Khirurgiia (Mosk)*.2016; (9):45-50.
15. Barone A, Otero M, Grangeat AM, Cao G, Azzato F, Rodríguez A, Milei, J. Ozonotherapy protects from in-stent coronary neointimal proliferation. Role of redoxins. *Int J Cardiol*. 2016; 223:258-261.
16. Molinari F, Rimini D, Liboni W et al. *Med Biol Eng Comput*; 2016. Doi:10.1007/s11517-016-1580-z
17. Sancak EB, Türkön H, Çukur S, Erimsah S, Akbas A, Gulpinar MT, Toman H, Sahin H, Uzun M. Major Ozonated Autohemotherapy Preconditioning Ameliorates Kidney Ischemia-Reperfusion Injury; 2016; 39(1):209-17. doi: 10.1007/s10753-015-0240-z.
18. Shinozuka Y, Uematsu K, Takagi M, Taura Y. Comparison of the Amounts of Endotoxin Released from *Escherichia coli* after Exposure to Antibiotics and Ozone: an In Vitro Evaluation. *Journal of Veterinary Medical Science*; 2008; 70(4):419-422. <http://doi.org/10.1292/jvms.70.419>.
19. Zobel R, Tkalčić S, Štoković I, Pipal I, Buić I. Efficacy of Ozone as a Novel Treatment Option for Urovagina in Dairy Cows. *Reproduction in Domestic Animals*; 2011; <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0531.2011.01857.x>
20. Zobel R, Tkalčić S. Efficacy of Ozone and Other Treatment Modalities for Retained Placenta in Dairy Cows. *Reproduction in Domestic Animals*; 2012; DOI: 10.1111/j.1439-0531.2012.02041.x
21. Tsuzuki N, Endo Y, Kikkawa L, Korosue K, Kaneko Y, Kitauchi A, Torisu, S. Effects of ozonated autohemotherapy on the antioxidant capacity of Thoroughbred horses. *The Journal of Veterinary Medical Science*; 2015; 77(12):1647–1650. <http://doi.org/10.1292/jvms.15-0225>

22. Ohtsuka H, Ogata A, Terasaki N, Koiwa M, Kawamura S. Changes in Leukocyte Population after Ozonated Autohemoadministration in Cows with Inflammatory Diseases. *The Journal of Veterinary Medical Science*; 2006; 68(2): p. 175-178. <http://doi.org/10.1292/jvms.68.175>
23. Haddad, M.; Souza, M.; Hincapié, J.; Ribeiro, J.; Ribeiro, J.; Benjamín, L.A. (2009) Comportamento de componentes bioquímicos do sangue em equinos submetidos à ozonioterapia. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*; 2009; 61(3):539-546.
24. Travagli V, Zanardi I, Bocci V. A realistic evaluation of the action of ozone on whole human blood. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2006; 39: p. 317–320.
25. Campuzano G. Del hemograma manual al hemograma de cuarta generación. *La clínica y el laboratorio*; 2007; 13:11-12.
26. Cueva R, Pastor J. Utilidad del hemograma en la clínica equina; 2006.
27. Cowell L. *Diagnostic cytology and hematology of the horse*. 2 th. ed. St. Louis, Mo. [u.a.]: Mosby; 2002.
28. Szarfarc S, Souza S, Furumoto R, Brunken G, Assis A, Gaudenzi E. Concentração de hemoglobina em crianças do nascimento até um ano de vida. *Cadernos De Saúde Pública*; 2004; 20(1):266-274. doi:10.1590/S0102-311X2004000100044
29. Pizzol D, Silva T. Riscos e benefícios para o feto e recém-nascido de medicamentos utilizados na gestação: misoprostol e antianêmicos. Tese de Doutorado. Rio Grande do Sul: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2006.
30. Torrens P. Interpretación clínica del hemograma. Retrieved from <http://www.elsevier.es>; 2015.
31. Meyer D, Harvey J. *El laboratorio en medicina veterinaria* 2 eth. ed. Inter - Medica Editorial; 2000.
32. Macrae A, Whitaker D, Burrough E, Dowell A, Kelly J. Use of metabolic profiles for the assessment of dietary adequacy in UK dairy herds. *The Veterinary Record*; 2006; 159(20):655-661. doi:10.1136/vr.159.20.655
33. Reed SM, Bayly WM. *Medicina Interna Equina*. 2 th. ed. Buenos Aires, Argentina: Inter-Médica; Sellon DC. 2005.

34. Nuñez L, Bouda J. Patología clínica veterinaria. 2 th. ed. Universidad Nacional Autónoma de México: FMVZ; 2007.
35. Latimer K, Prasse K, Mahaffey E. Duncan y Prasse's. Patología clínica veterinaria. 4 th. ed. Barcelona: Multimedica; 2005.
36. Boffy, F. M. Fisiología del ejercicio en equinos. Buenos Aires - República Argentina: Inter Médica; 2007.
37. Kaneko J, Harvey J, Bruss M. Clinical biochemistry of domestic animals. 6 th. ed. Academic Press; 2008.
38. Johnston J, Colahan P, Mayhew I, Merritt A, Moore J. Enfermedades del Hígado. Medicina y Cirugía Equina. 4 th ed. Editorial Inter.-Médica. Buenos Aires, Argentina. 1998; 635 – 642.

CAPITULO 2.

DETERMINACIÓN DE LOS EFECTOS DE LA APLICACIÓN INTRAVENOSA DE OZONO EN LA BIOMETRIA Y BIOQUIMICA HEMÁTICA EN CABALLOS (*Equus ferus caballus*) CLÍNICAMENTE SANOS.

DETERMINATION OF THE EFFECTS OF THE INTRAVENOUS APPLICATION OF OZONE IN THE BIOMETRY AND BLOOD BIOCHEMISTRY OF HORSES (*Equus ferus caballus*) CLINICALLY HEALTHY.

APLICACIÓN INTRAVENOSA DE OZONO EN BIOQUÍMICA Y BIOMETRÍA HEMÁTICA EN CABALLOS SANOS.

Alfredo Suarez chica¹ M.Sc (e); José A. Cardona Álvarez² Ph.D;
Bernardo José Reyes¹ M.Sc.

¹ Universidad de Córdoba, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Departamento de Ciencias Pecuarias, Grupo de investigación en Medicina de Grandes Animales (MEGA), Montería, Colombia.

* Correspondencia: Alfredosuarz@hotmail.com

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar los efectos de la aplicación intravenosa de ozono en la biometría y bioquímica hemática en caballos clínicamente sanos.

Materiales y métodos. La investigación fue descriptiva y experimental de tipo transversal. El tipo de muestreo fue no probabilístico de conveniencia donde se seleccionaron 14 animales, distribuidos en tres grupos A y B conformado por 6 animales cada uno y el grupo C por 2 animales, El ozono se aplicó utilizando la autohemoterapia mayor, la sangre fue obtenida de la vena yugular 400ml utilizando El kit SANO3® Copyright 2017 PAOLO GOBBI FRATTINI Srl Italia, Todos los derechos reservados. Se muestrearon los animales 24 horas antes de la primera aplicación del ozono y, 24 horas después de cada aplicación, se realizó un muestreo 15 días después de la última aplicación para un total de siete muestreos y cinco aplicaciones de ozono por animal. De las muestras obtenidas se determinaron los hemogramas y

componentes bioquímicos hemáticos; ALT, AST, ALP, Proteínas totales, Albumina, BUN, Bilirrubina total y Bilirrubina directa. **Resultados.** Se presentan los resultados y diferencias para cada variable. **Conclusión.** La aplicación del ozono a dosis terapéuticas no causó alteraciones negativas en la hematología y bioquímica sanguínea de los equinos.

Palabras clave: Caballos, Ozono, Sangre, Intravenoso (*Mesh*).

ABSTRACT

The objective of the present study was to determine the effects of intravenous application of ozone on blood biometrics and blood chemistry in clinically healthy horses. **Materials and methods.** The research was descriptive and experimental of a transversal type. The type of sampling was non-probabilistic of convenience where 14 animals were selected, distributed in three groups A and B made up of 6 animals each and group C by 2 animals. Ozone was applied using the major autohemotherapy, the blood was obtained from jugular vein 400ml using The SANO3® Kit Copyright 2017 PAOLO GOBBI FRATTINI Srl Italy, All rights reserved. Animals were sampled 24 hours before the first application of ozone and, 24 hours after each application, a sampling was carried out 15 days after the last application for a total of seven samplings and five applications of ozone per animal. From the obtained samples the hemograms and hematic biochemical components were determined; ALT, AST, ALP, Total Proteins, Albumin, BUN, Total Bilirubin and Direct Bilirubin. **Results.** Results and differences for each variable are presented. **Conclusion.** The application of ozone at therapeutic doses did not cause negative alterations in the hematology and blood biochemistry of equines.

Key words: Horses, Ozone, Blood, Intravenous (*Mesh*).

INTRODUCCION

Con los diferentes usos (trabajo, recreo, deporte, escuela, reproducción, etc.), los potros y caballos tienen que adaptarse a numerosos desafíos y cambios en su entorno, que puede ser un reto en sí para salvaguardar en forma continua su bienestar, incluso para cubrir sus necesidades próximas (alimentación y reproducción) (1).

El ozono en la atmosfera se localiza integrando la denominada capa de Ozono que nos protege de las radiaciones ultravioleta del sol, de forma natural dichas radiaciones

descomponen las moléculas de Oxígeno del aire en átomos libres, los cuales se unen en el ambiente con otras moléculas de Oxígeno para constituir el ozono (2).

El termino ozono procede del griego *ozein*, “tener olor” a, debido a que el ozono es un gas de color azul pálido y fuerte olor. El ozono puede encontrarse de forma natural en las capas altas de la atmosfera formando lo que se conoce como “capa de ozono”, que es de gran importancia biológica ya que atenúa los efectos de la radiación ultravioleta (3). La ozonoterapia es la aplicación de Ozono con fines médicos para el tratamiento de diversas enfermedades presentes en la clínica veterinaria. Es considerada una terapia de la medicina alternativa que adquirió importancia a finales del siglo XVIII (4).

La ozonoterapia es una técnica que está encaminada a ayudar en diversas enfermedades que se presentan en la clínica veterinaria. Sirve como coadyuvante debido a sus propiedades analgésicas, germicida, por mencionar algunas (5). En la actualidad existen más de 40 asociaciones nacionales e internacionales que agrupan los profesionales que practican esta terapia, revistas especializadas indexadas, cursos de formación continuada y congresos sobre el tema. Sin embargo, la aplicación generalizada de la ozonoterapia y su regularización por parte de las autoridades es un tema crítico en la actualidad (6).

Dado que existe muy poca información acerca de esta técnica en la actualidad y sobre todo de su uso en los equinos, el objetivo del presente estudio fue determinar los efectos de la aplicación intravenosa de ozono en la biometría y bioquímica hemática en caballos clínicamente sanos.

MATERIALES Y METODOS

La investigación fue descriptiva y experimental de tipo transversal.

Muestreo. El tipo de muestreo fue no probabilístico de conveniencia donde se seleccionaron 14 animales, distribuidos en tres grupos A y B conformado por 6 animales cada uno y el grupo C por 2 animales, todos los grupos tuvieron igual número de machos y hembras, de acuerdo al criterio del proyecto, se realizó una determinación

de los efectos de la aplicación intravenosa de ozono en la biometría y bioquímica hemática en caballos clínicamente sanos.

Localización. El estudio fue realizado en el departamento de Córdoba, Colombia, ubicado entre las coordenadas 7°23' y 9°26' LN y los 74°52' y 76°32' LO del meridiano de Greenwich, a una altura de 30 m.s.n.m, con temperatura promedio anual de 28°C, humedad relativa del 82 %, precipitación media anual de 1400 mm y pertenece a la formación climática de bosque tropical lluvioso, se presentan dos estaciones bien definidas (época de lluvia y época seca) (7).

Animales. En el presente trabajo fueron utilizados 14 caballos criollos colombianos clínicamente sanos, de diferentes sexos y con edades comprendidas entre los 5 y 7 años. Los criterios de inclusión fueron aquellos animales sanos mediante el examen físico, y que la biometría y química sanguínea se encuentre dentro de los parámetros de referencia para la especie. Para el caso de las hembras no se incluían las que estuvieran en gestación ni en periodo de lactancia. Este trabajo conto con aval del comité de ética de la facultad de medicina veterinaria y zootecnia de la Universidad de Córdoba Acta No. 001 del 14 de junio del 2017.

Preparación de los animales. Los animales seleccionados fueron estabulados y sometidos a las mismas condiciones de alimentación con heno de Angleton (*Dichantium aristatum*) y agua a voluntad, se realizó homogeneidad sanitaria así; desparasitación con Doramectina (Dectomax 1% ® laboratorio Zoetis argentina), a dosis de 0.2 mg/kg vía I.M) treinta (30) días antes del inicio del estudio y se aplicó quimioprofilaxis: con Dipropionato de imidocarb (Imizol®, MSD animal, Colombia) 30 días antes del muestreo para estandarizar los animales susceptibles a prevalencia a hemoparásitos (*Babesia* spp, *Anaplasma* spp, *Ehrlichia* spp.) Imizol® a dosis de 3 mg/kg vía I.M.

Protocolo. El ozono se aplicó utilizando la autohemoterapia mayor, la sangre fue obtenida de la vena yugular 400ml utilizando El kit SANO3® Copyright 2017 PAOLO GOBBI FRATTINI Srl Italia, Todos los derechos reservados. Este kit está compuesto

por una bolsa de recolección y un equipo de infusión. La bolsa está fabricada en material de PVC libre de ftalatos o ésteres de ácido ftálico y contiene 35 mL de solución de anticoagulante ACD-A.

Los dos conectores de la bolsa están libres de agujas y con cierre hermético inalterable. Seguidamente la sangre fue ozonizada con una concentración de 60 μ /mL en 250 ml de ozono los cuales fueron mezclados con los 400 ml de sangre presentes en la bolsa para el grupo A y de 25 μ /mL en 250 ml de ozono para el grupo B, al grupo C no se le administro ozono. Para el estudio se utilizó una unidad generadora de ozono (Ozonizer® mod. CMDR-050575, Colombia, 2016) la cual estuvo conectada a un tanque de oxígeno portátil de 800 psi input- output 50 psi (**Cryogas® Colombia 2018**). Después de tener la sangre ozonizada se realizó la autohemoterapia mayor se aplicó vía yugular a velocidad macrogoteo previa cateterización (INTROCAN BRAUN ®) calibre 14 x 1 ½ “previa antisepsia y fijación del mismo con sutura de Nylon calibre 2-0 (**Corpalon®, Corpaul, Medellín, Colombia**).

Obtención de la muestra. Se muestrearon los animales 24 horas antes de la primera aplicación del ozono y, 24 horas después de cada aplicación, se realizó un muestreo 15 días después de la última aplicación para un total de siete muestreos y cinco aplicaciones de ozono por animal. El tratamiento de los animales consistió en la mezcla de oxígeno-ozono por vía intravenosa usando como vehículo para la aplicación sangre obtenida de la yugular 400 mL mediante el kit SANO3® Copyright 2017 PAOLO GOBBI FRATTINI Srl Italia, Todos los derechos reservados, Se realizaron dos tratamientos: El grupo A y B, estaban distribuidos de la siguiente manera cada uno: conformados por 3 hembras y 3 machos, que recibieron el volumen de 400 mL de sangre mezclado con 250 ml ozono (O₂-O₃) a una concentración de 60 μ /mL para el grupo A y de 25 μ /mL para el grupo B respectivamente

De las muestras obtenidas se determinaron los hemogramas y componentes bioquímicos hemáticos; ALT, AST, ALP, Proteínas totales, Albumina, BUN, Bilirrubina total y Bilirrubina directa. Todos los animales fueron sometidos a un examen físico diario, donde fueron evaluadas las constantes fisiológicas temperatura, tiempo de

llenado capilar, coloración de las mucosas, frecuencia cardiaca y respiratoria, apetito y actitud al medio.

Procesamiento de la muestra. Para la determinación de ALT, AST, ALP, Proteínas totales, Albumina, BUN, Bilirrubina total y Bilirrubina directa, se recogieron 10 mL de sangre en tubos Vacutainer® (BD®, Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ) al vacío sin anticoagulante (tapa roja) por punción de la vena yugular externa. Estas muestras fueron llevadas al laboratorio de andrología de la Universidad de Córdoba sede Berasteguí km 8 vía Cerete_ Ciénaga de oro. Para este análisis se utilizó el equipo Wiener Lab. Metrolab 1600 DR, (Argentina, 2016). Las muestras para hemograma fueron tomadas en tubos con EDTA (tapa lila) mediante punción en la vena yugular con capacidad para 2 mL de sangre y fueron procesadas en el equipo IDEXX ProCyt Dx® Analizador hematológico, (USA, 2016).

Análisis estadístico. Los resultados obtenidos se tabularon en Microsoft Excel® 2010 y analizados mediante estadística descriptiva para cada una de las variables, utilizando para ello el Paquete Estadístico SAS realizando un análisis de medidas repetidas en el tiempo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuadro 1. Valores medios de tratamiento de la línea roja en equinos tratados con ozono clínico según dosis.

Dosis	Hematocrito ^{ns} (%)	Hemoglobina ^{ns} (g/dL)	Eritrocitos ^{ns} (x10 ⁶ µL)	Plaquetas (x 10 ³ µL)
Grupo A	30.78	11.32	6.98	256.00 ^a
Grupo B	32.25	11.69	6.93	237.86 ^b
Grupo C	32.11	11.37	6.64	232.00 ^c

Valores en la misma columna con diferentes letras difieren entre sí (P≤0.05).

^{ns} no significativo

Total, de 98 muestras

En el cuadro 1. Se presentan los valores medios obtenidos a lo largo del experimento sobre los parámetros hematológicos de la línea roja de los equinos evaluados por dosis de ozono (Grupo A de 60 µ/mL, Grupo B de 25 µ/mL y Grupo C).

Hematocrito. Las diferencias encontradas no fueron significativas ($p>0,05$) para los valores medios del hematocrito (cuadro 1). Este resultado difiere con lo reportado por Guevara (8), debido a que ellos encontraron valores entre 39,3 y 41,1% que fueron superiores al de nuestro estudio. Los valores obtenidos estuvieron dentro de los parámetros de referencia para la región de Córdoba – Colombia Min 20,40 – Max 44,60 % según lo reportado por Herrera et al (9).

Hemoglobina. Las diferencias encontradas no fueron significativas ($p>0,05$) para los valores medios de la hemoglobina (cuadro 1). Lo cual difiere de otros estudios (8), debido a que ellos encontraron valores entre 9,9 y 10,3 g/dL que fueron inferiores al de nuestro estudio. Donde ellos reportan diferencias significativas en la hemoglobina después de realizar aplicaciones de ozono medicinal, cabe resaltar que los valores reportados están dentro de los parámetros normales para la especie 10,7 y 15,8 g/dL según lo reportado por Castillo et al (10).

Eritrocitos. Las diferencias encontradas no fueron significativas ($p>0,05$) para los valores medios de los eritrocitos (cuadro 1). Este resultado difiere con lo reportado por Guevara debido a que ellos encontraron valores entre 8,5 y 8,4 $\times 10^6$ μ L que fueron superiores al de nuestro estudio (8).

Plaquetas. Las diferencias encontradas si fueron significativas ($p<0,05$) para los valores medios de las plaquetas (cuadro 1). El aumento en las plaquetas se debe a la modificación transitoria en la estructura del fibrinógeno a causa de los radicales libres liberados durante la ozonoterapia (11). Cabe resaltar que los valores reportados están dentro de los parámetros normales para la especie (Min 112 – Max 394 $\times 10^3/\text{mm}^3$), según lo reportado por Castillo et al. (10). Y (Min 183 – Max 462,20 $\times 10^3/\text{mm}^3$) reportado por Herrera et al. (9).

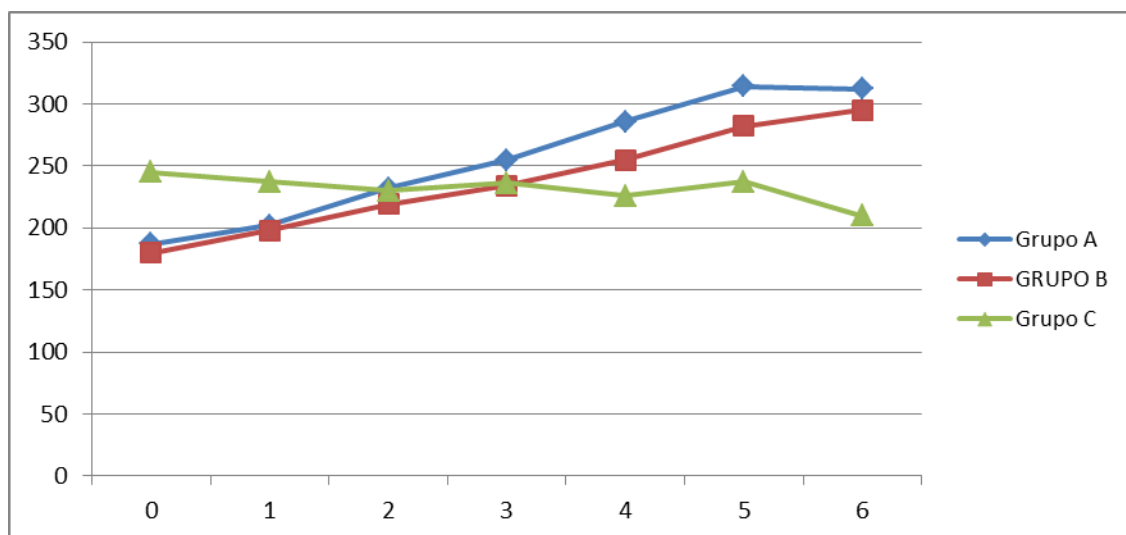


Grafico 1. Valores medios de las plaquetas para los grupos experimentales.

Cuadro 2. Valores medios de la línea blanca en equinos tratados con ozono clínico según dosis.

Plaquetas 10 ³ /mm ³	Dosis	Leucocitos (x10 ³ /mm ³)	Granulocitos (x10 ³ /mm ³)	Linfocitos ^{ns} (x10 ³ /mm ³)	Eosinófilos ^{ns} (x10 ³ /mm ³)	Monocitos ^{ns} (x10 ³ /mm ³)
Grupo A		9.20 ^a	6.06 ^a	2.87	0.68	0.29
Grupo B		8.88 ^b	5.64 ^a	2.83	0.69	0.29
Grupo C		10.04 ^c	8.00 ^c	3.03	0.71	0.33

Valores en la misma columna con diferentes letras, difieren entre sí (P≤0.05).

ns: no significativo.

Total, de 98 muestras.

En el cuadro 2. Se presentan los valores medios obtenidos a lo largo del experimento sobre los parámetros hematológicos de la línea blanca de los equinos evaluados por dosis de ozono (Grupo A de 60 µ/mL, Grupo B DE 25 µ/mL y Grupo C).

Leucocitos. Las diferencias encontradas si fueron significativas (p<0,05) para los valores medios de los leucocitos (cuadro 2). Lo cual difiere de lo reportado por Guevara debido a que ellos encontraron valores entre 8,3 y 8,3 x 10³/mm³ que fueron inferiores al de nuestro estudio (8), donde ellos reportan no tener diferencias significativas en los leucocitos después de realizar aplicaciones de ozono medicinal, Cabe resaltar que los

valores reportados están dentro de los parámetros normales para la especie (Min 5,2 – Max 12,1 x 10³/mm³), según lo reportado por Castillo et al (10) y (Min 3,6 – Max 12,8 x 10³/mm³) reportado por Herrera et al (9).

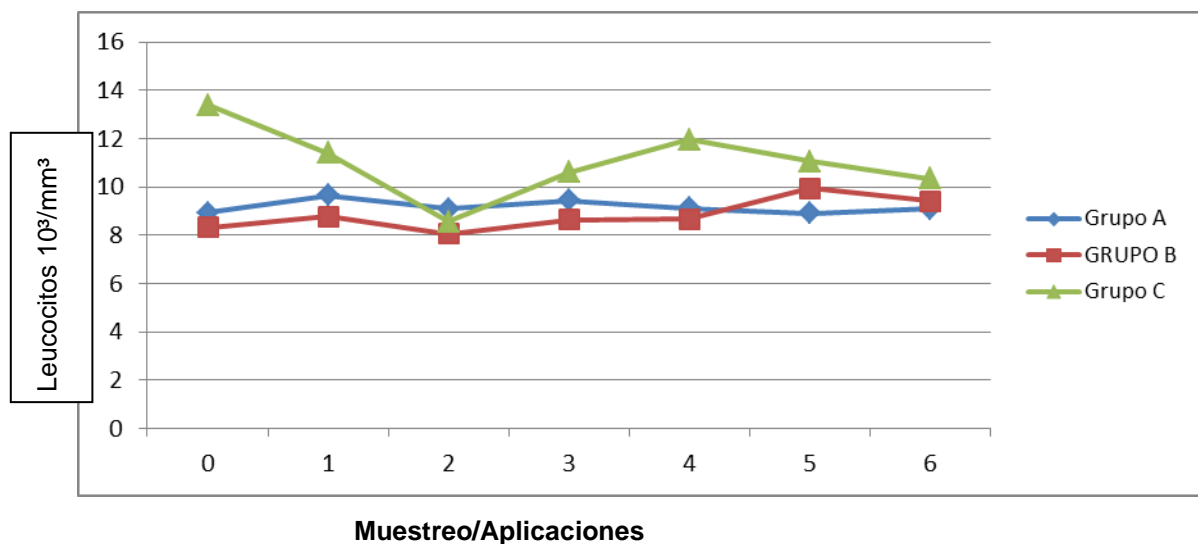


Grafico 2. Valores medios de los leucocitos para los grupos experimentales.

Granulocitos. Las diferencias encontradas si fueron significativas ($p < 0,05$) para los valores medios de los granulocitos (cuadro 2), después de realizar aplicaciones de ozono medicinal, los valores para granulocitos están dentro de los parámetros normales (Min 2,2 – Max 8,8 x 10³/mm³), según lo reportado por Izurieta et al (12).

Linfocitos. Las diferencias encontradas no fueron significativas ($p > 0,05$) para los valores medios de los linfocitos (cuadro 2). Los valores para los linfocitos están dentro de los parámetros normales en comparación con lo reportado por Herrera et al. (Min 0,7 – Max 6,20 x 10³/mm³); (9).

Eosinófilos. Las diferencias encontradas no fueron significativas ($p > 0,05$) para los valores medios de los linfocitos (cuadro 2). Los valores para los eosinófilos están dentro de los parámetros normales en comparación con lo reportado por Herrera (Min 0,1 – Max 1,04 x 10³/mm³); (13).

Monocitos. Las diferencias encontradas no fueron significativas ($p>0,05$) para los valores medios de los monocitos (cuadro 2). Los valores para los monocitos están dentro de los parámetros normales en comparación con lo reportado por Herrera (Min 0,1 – Max $1,1 \times 10^3/\text{mm}^3$); (13).

La acción inmunológica del ozono sobre la sangre está dirigida, fundamentalmente, sobre los monocitos y sobre los linfocitos T, los que una vez inducidos, liberan pequeñas cantidades de prácticamente todas las citocinas, por lo que la liberación se producirá de manera endógena y controlada. Esta regulación está dada porque el ozono actúa como un potenciador del sistema inmunológico al activar los neutrófilos y estimular la síntesis de algunas citocinas (14).

Cuadro 3. Valores medios de la bioquímica sanguínea en equinos tratados con ozono clínico según dosis.

Variable	GRUPO A	GRUPO B	GRUPO C	CV
AST UI/L ^{ns}	120,70	123,33	115,66	21,34
ALT UI/L ^{ns}	3,08	3,49	2,57	41,87
ALP UI/L	352,94 ^a	324,51 ^b	344,96 ^c	18,02
Albumina g/dL ^{ns}	2,58	2,45	2,48	20,36
Proteínas totales mg/dL ^{ns}	6,62	6,49	6,13	15,50
UREA mg/dL	39,84 ^a	34,77 ^b	30,03 ^c	21,62
BUN mg/dL	10,60 ^a	14,49 ^b	12,51 ^c	21,62
Bilirrubina directa mg/dL ^{ns}	0,26	0,30	0,24	35,13
Bilirrubina total mg/dL	1,62 ^a	1,54 ^b	1,33 ^c	23,50

Valores en la misma columna con diferentes letras, difieren entre sí ($P\leq 0,05$).

ns: no significativo.

Total, de 98 muestras.

En el cuadro 3. Se presentan los valores medios obtenidos a lo largo del experimento sobre los parámetros de la bioquímica sanguínea de los equinos evaluados por dosis de ozono (Grupo A de 60 μmL , Grupo B de 25 μmL y Grupo C).

AST. Las diferencias encontradas no fueron significativas ($p \geq 0,05$) para los valores medios de la AST (cuadro 3). Estos resultados están por debajo de los valores de referencia 290 ± 61 UI/L reportados por Díaz et al. (15).

ALT. Las diferencias encontradas no fueron significativas ($p \geq 0,05$) para los valores medios de la ALT (cuadro 3). Estos resultados están por debajo de los valores de referencia $10,8 \pm 2,3$ UI/L reportados por Díaz et al.(15). La alanina aminotransferasa en el caso de caballos y rumiantes no es significativa (16).

ALP. Las diferencias encontradas si fueron significativas ($p \leq 0,05$) para los valores medios de la ALP (cuadro 3), después de realizar aplicaciones de ozono medicinal, los valores para ALP están dentro de los parámetros normales 244 ± 101 UI/L, según lo reportado por Kaneko (17). El ozono tiene un efecto benéfico en pacientes humanos con cáncer induciendo a una disminución significativa de la fosfatasa alcalina (18).

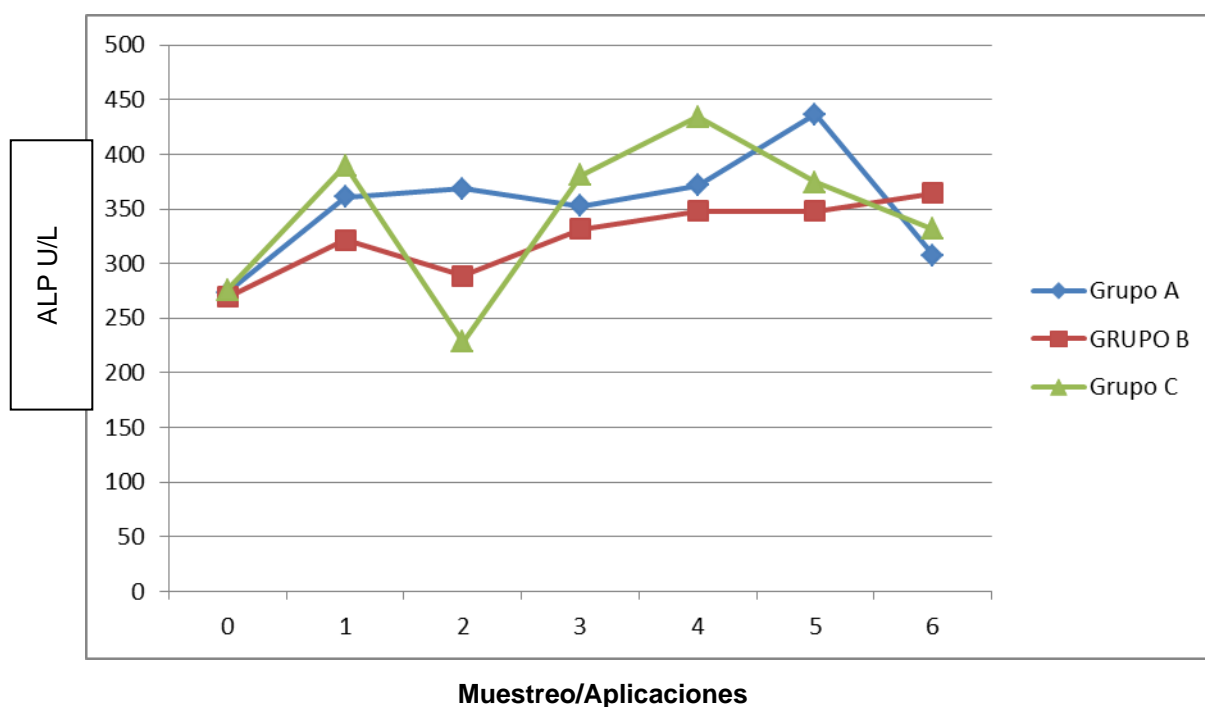


Grafico 3. Valores medios de la ALP para los grupos experimentales.

Albumina. Las diferencias encontradas no fueron significativas ($p \geq 0,05$) para los valores medios de la albumina (cuadro 3). Estos resultados están dentro de los parámetros de referencia 3.22 ± 0.75 g/dL reportados por Ussa et al. (19).

Proteínas totales. Las diferencias encontradas no fueron significativas ($p \geq 0,05$) para los valores medios de las proteínas totales (cuadro 3). Estos resultados están dentro de los parámetros de referencia Min 4,34 – Max 7,19 mg/dL obtenidos por otros investigadores en la región de Córdoba - Colombia (13).

Urea. Las diferencias encontradas si fueron significativas ($p \leq 0,05$) para los valores medios de la UREA (cuadro 3), después de realizar aplicaciones de ozono medicinal, los valores para la UREA están dentro de los parámetros de referencia Min 10,4 – Max 50,27 mg/dL, según lo reportado por Herrera (13).

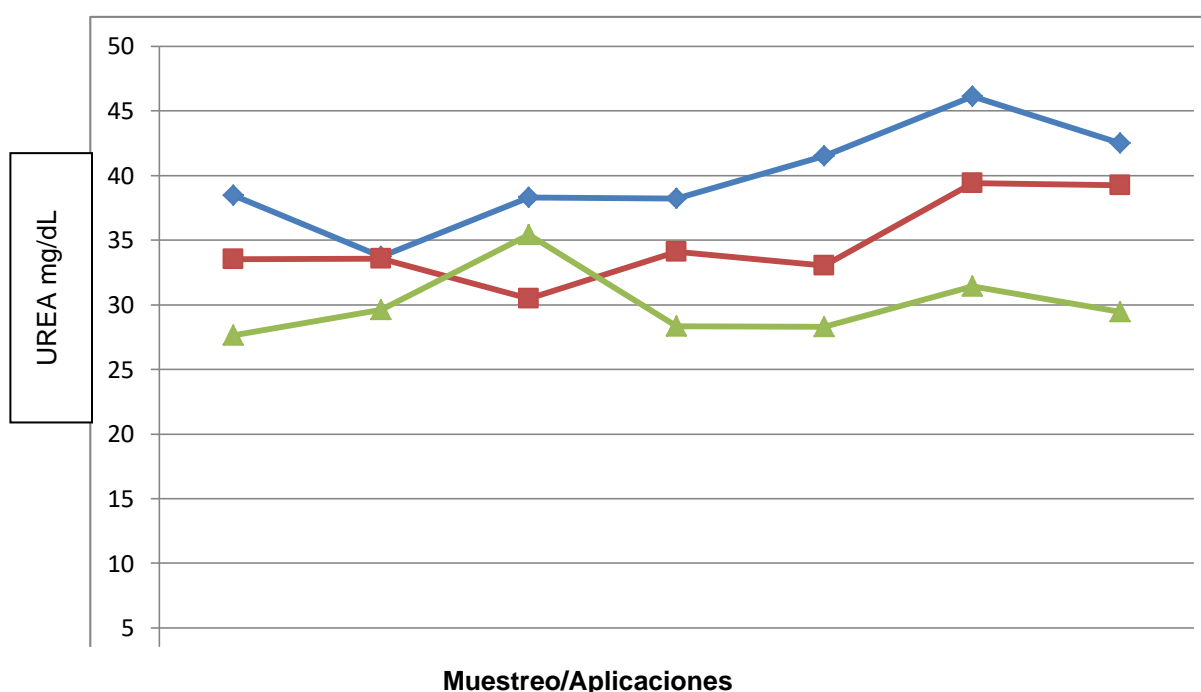


Grafico 4. Valores medios de la UREA para los grupos experimentales.

BUN. Las diferencias encontradas si fueron significativas ($p \leq 0,05$) para los valores medios de la BUN (cuadro 4), después de realizar aplicaciones de ozono medicinal, los valores para el BUN están dentro de los parámetros de referencia Min 5,98 – Max 33,99 mg/dL, según lo reportado por Herrera (13).

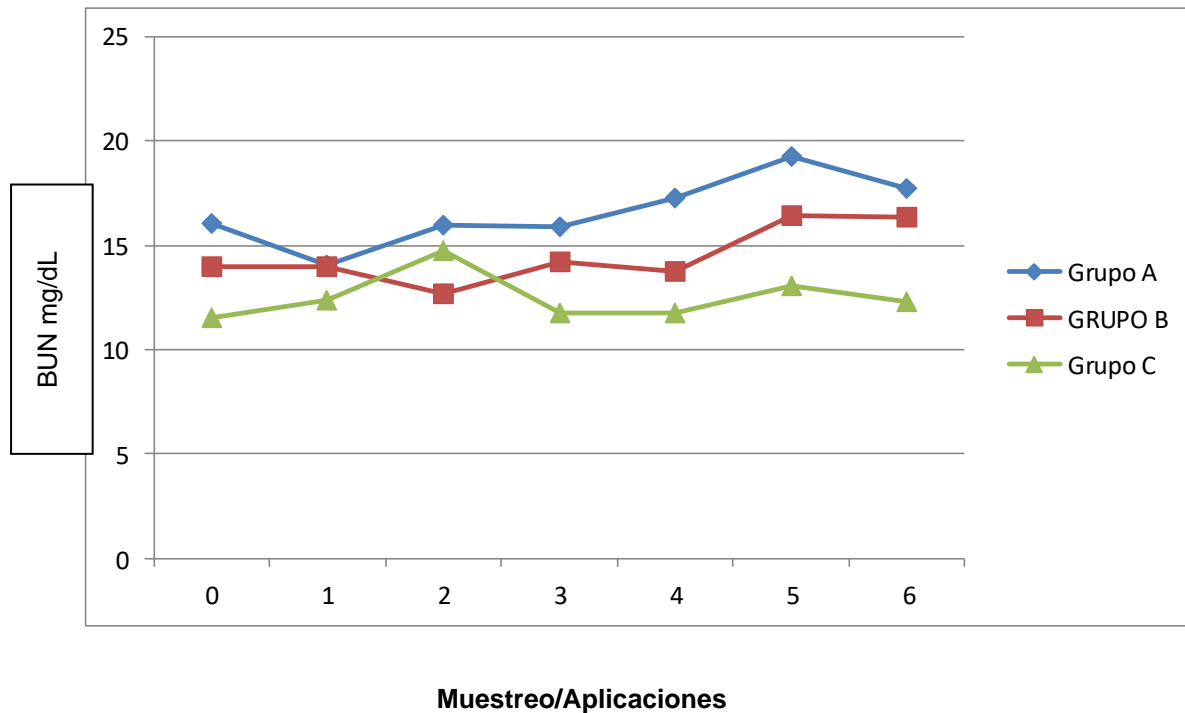


Grafico 5. Valores medios del BUN para los grupos experimentales.

Bilirrubina directa. Las diferencias encontradas no fueron significativas ($p \geq 0,05$) para los valores medios de la bilirrubina directa (cuadro 3). Estos resultados están dentro de los parámetros de referencia $0,4 \pm 0,1$ mg/dL por los investigadores Díaz et al. (15).

Bilirrubina total. Las diferencias encontradas fueron significativas ($p \leq 0,05$) para los valores medios de la bilirrubina total (cuadro 3). Estos resultados están dentro de los parámetros de referencia $2.3 \pm 1,4$ mg/dL por los investigadores Díaz et al. (15).

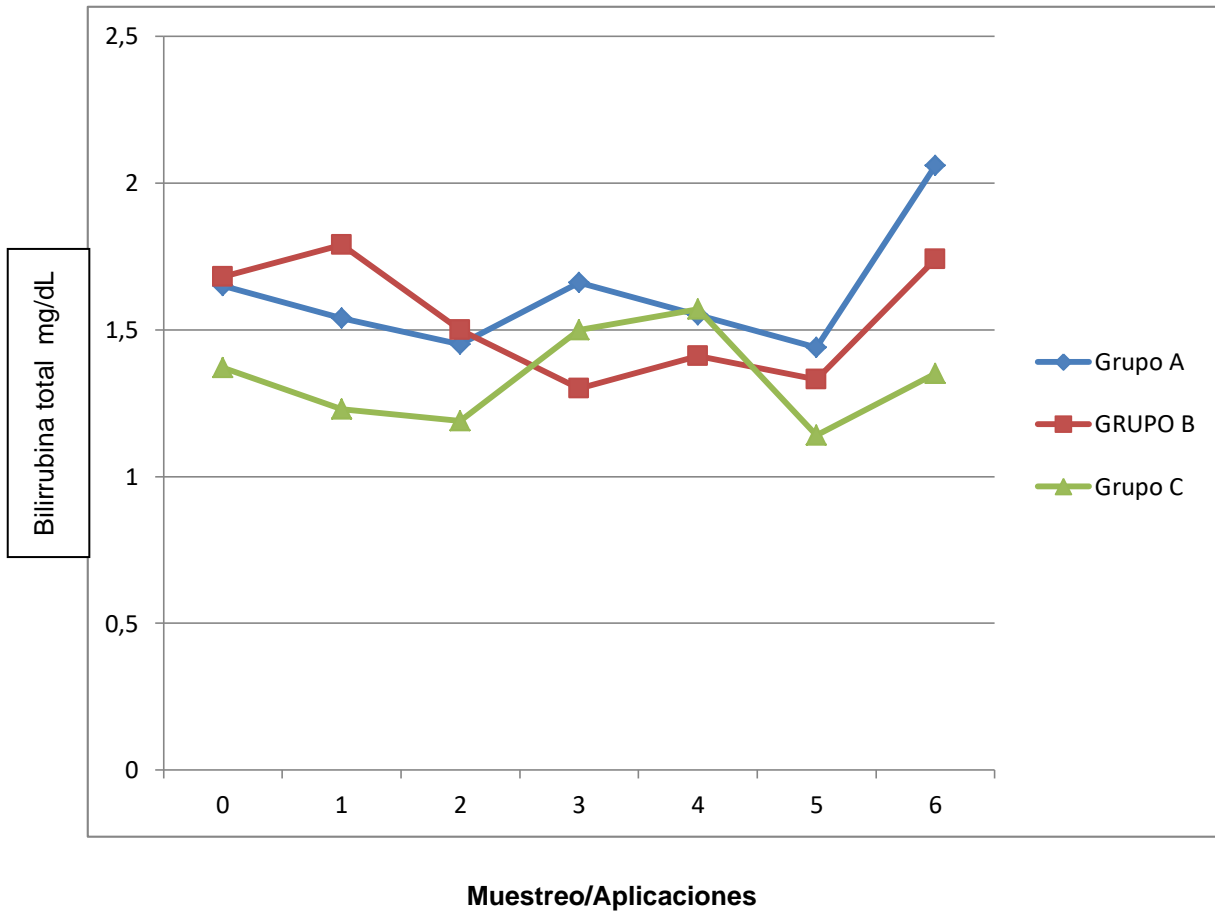


Grafico 6. Valores medios de la Bilirrubina total para los grupos experimentales.

Durante la aplicación del ozono a los equinos no se determinó alteraciones en las constantes fisiológicas ni en el comportamiento de ellos.

CONCLUSIONES

- Se presenta el primer reporte sobre el uso de la autohemoterapia mayor en equinos en el departamento de Córdoba – Colombia.
- Los resultados del presente estudio podrán servir como valores de referencia para la utilización del ozono en equinos.
- La exposición de equinos sanos a la autohemoterapia mayor a dosis de 25 μ /mL y 60 μ /mL en 250 mL de la mezcla ($O_2 - O_3$), no tiene efectos negativos en los equinos.
- La aplicación del ozono a dosis terapéuticas no causó alteraciones negativas en la hematología y bioquímica sanguínea de los equinos.
- La aplicación del ozono a dosis adecuadas favorece la regulación inmunológica.

RECOMENDACIONES

- Es recomendable realizar a futuro próximos estudios que correlacionen variables como la edad y el sexo con los valores promedio de variables de la hematología y química sanguínea después de la aplicación del ozono medicinal.
- La aplicación de ozono clínico en equinos puede ser utilizada en casos de trombocitopenia.
- Debido a la regulación del sistema inmunológico, se recomienda su aplicación como estimulante del sistema inmune y terapia de apoyo en el tratamiento de las enfermedades de etiología variada.

- Realizar la ozonoterapia en equinos enfermos para ver el comportamiento de los parámetros hematológicos, bioquímicos sanguíneos y la respuesta fisiológica que estos puedan tener sobre la aplicación del ozono medicinal.

BIBLIOGRAFÍA

1. McIlwraith C. Equine welfare. Oxford; Ames Iowa: Wiley-Blackwell; 2011.
2. Menéndez S, González R, Ledea O, Hernández F, León O, Díaz M. El ozono: Aspectos básicos y sus aplicaciones clínicas. Ciudad de La Habana, Cuba: CENIC; 2008.
3. Vidal, S. Efectividad clínica de las intervenciones con ozono. España: Ministerio de Sanidad y Consumo AETSA; 2008
4. Colin A. Manual del uso de la ozonoterapia en perros. Available from ProQuest Central Basic; 2016.
5. Vida L, Urruchi W, Rodríguez Z. Utilidad potencial de la ozonoterapia en la medicina veterinaria - potential usefulness of ozone therapy in the veterinary medicine. REDVET; 2009.
6. Martínez G, Schwartz A. La ozonoterapia y su fundamentación científica. Revista Española de Ozonoterapia; 2012;2(1):163-198. Retrieved from <http://dialnet.unirioja.es/servlet/oaiart?codigo=3915917>
7. Pabón J, Eslava J, Gómez R. Generalidades de la distribución espacial y temporal de la temperatura del aire y de la precipitación en Colombia; 2001: 47–59.
8. Guevara L. Efecto de la Ozonoterapia sobre los parámetros hematológicos y constantes fisiológicas en equinos. Zamorano Honduras: Zamorano carrera de producción y ciencia agropecuaria. 2007; 41 p
9. Herrera Y, Rugeles C, Vergara O. Perfil hematológico del burro criollo (*Equus asinus*) Colombiano. Rev Colombiana Cienc Anim. 2017; 9(2):158-163.
10. Castillo CA, Tobón M, Cano CA, Mira J, Suarez AP, Vásquez EM. Valores hematológicos en caballos criollos colombianos del Valle de Aburrá. 2011; 245 - 261. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10567/73>

- 11.Haddad, M.; Souza, M.; Hincapié, J.; Ribeiro, J.; Ribeiro, J.; Benjamín, L.A. (2009) Comportamento de componentes bioquímicos do sangue em equinos submetidos à ozonioterapia. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec; 2009; 61(3):539-546.
- 12.Izurieta JL, Luna DF, Cedeño YM, Chacha SR. Determinación de los valores de referencia en el hemograma de caballos nacidos o criados a más de 3000 m.s.n.m. en la sierra centro norte ecuatoriana.2017; 25(1). Disponible en <http://revistas.ups.edu.ec/index.php/granja/article/download/25.2017.06/1243>
- 13.Herrera YM. Parámetros hematológicos y bioquímica sanguínea de burros criollos (*Equus asinus*) de Córdoba, Colombia. Universidad de Córdoba; 2016. 66 p.
- 14.Scwhartz A, Martinez G. La ozonoterapia y su fundamentación científica. Revista Espanola de Ozonoterapia. 2012; 2(1):163 - 198.
- 15.Diaz H, Gavidia C, Li O, Tio A. Valores hematológicos, bilirrubinemia y actividad enzimática sérica en caballos peruanos de paso del valle de lurín, lima. Rev Inv Vet Peru. 2011; 22 (3):213 – 222
- 16.Nuñez L, Bouda J. Patología clínica veterinaria. 2 th. ed. Universidad Nacional Autónoma de México: FMVZ; 2007.
- 17.Kaneko J, Harvey J, Bruss M. Clinical biochemistry of domestic animals. 6 th. ed. Academic Press; 2008
- 18.Vélez M. Terapia adyuvante con ozono en paciente con cáncer de páncreas metastásico. Revista Española de Ozonoterapia.2015; 5(1):21-31,
- 19.Ussa JN, Salgado JA. Determinación de hematocrito (hto), proteínas plasmáticas totales (ppt) y albúmina (alb) en caballos de salto antes y después de cada entrenamiento en Bogotá. Tesis. Universidad de la Salle. 2009; p. 40.